

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 197 16 713 A 1**

⑤1 Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**A 61 K 31/215**  
A 61 K 31/60

②1 Aktenzeichen: 197 16 713.6  
②2 Anmeldetag: 21. 4. 97  
④3 Offenlegungstag: 22. 10. 98

DE 197 16 713 A 1

⑦1 Anmelder:

PAZ Arzneimittel-Entwicklungsgesellschaft mbH,  
65933 Frankfurt, DE

⑦4 Vertreter:

H. Weickmann und Kollegen, 81679 München

⑦2 Erfinder:

Bang, Holger, Dr., 91052 Erlangen, DE; Brume, Kay,  
Prof. Dr. Dr.h.c., 91080 Marloffstein, DE; Geißlinger,  
Gerd, Dr. Dr., 91085 Weisendorf, DE; Pahl, Andreas,  
Dr., 91054 Erlangen, DE; Scheuren, Nicole, Dr.,  
91052 Erlangen, DE; Neupert, Werner, 91056  
Erlangen, DE

⑤6 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
zu ziehende Druckschriften:

US 56 31 296 A

US 55 45 669 A

BALDWIN, Albert, S.: The NF- $\kappa$ <sup>B</sup> and I $\kappa$ <sup>B</sup>  
Proteins: New Discoveries and Insights. In:  
Annu. Rev. Immunol. 14, 1996, S.672-675;  
EVANS, A.M.: Enantioselective pharmacodynamics  
and pharmacokinetics of chiral non-steroidal  
anti-inflammatory drugs. In: Eur. Journal of  
Clinical Pharmacol. 42, 1992, S.237-256;  
XIAOTAO, Qian, HALL, Stephen D.: Enantioselective  
Effects of Experimental Diabetes Mellitus on  
the Metabolism of ibuprofen. In: The Journal  
of Pharmacol. and Experimental Therapeutics,  
Vol. 274, No. 3, 1995, S.1192-1198;  
MENZEL, S. et.al.: Is the formation of R-  
ibuprofenyl-adenylate the first stereoselective  
step of chiral inversion? In: Biochemical  
Pharmacology, Vol. 48, No. 5, S.1056-1058;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

⑤4 Arzneimittel, enthaltend Ibuprofenthioester als Hemmer der NF- $\kappa$ B abhängigen Bildung von Mediatoren von  
Entzündung und Schmerz

⑤7 Arzneimittel, enthaltend CoA-Thioester von Arylpropi-  
onsäuren, Arylessigsäuren oder Acetylsalicylaten, R-Ibu-  
profen oder Razemate von Ibuprofen mit bis zu 49%  
S-Ibuprofen oder Derivate der genannten Verbindungen,  
welche im Organismus in analoger Weise metabolisiert  
werden, werden erfindungsgemäß für die Indikationen  
akuter oder/und chronischer Schmerz, Entzündungen jed-  
weder Genese und zur Bekämpfung aller anderen Sym-  
ptome von entzündlichen Prozessen verwendet.

USSN 09/421,545  
Atty docket #432722002621

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, die spezifisch und selektiv die Aktivierung des Transkriptionsfaktors  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  durch entzündliche Stimuli blockieren und damit selektiv in die Entwicklung der Symptome von Entzündung und Schmerz eingreifen.

Schmerz- und Rheumamittel sind die am meisten verwendeten Arzneistoffe weltweit. Sie bestehen im wesentlichen aus Substanzen, die die Enzyme Cyclooxygenase 1 und 2 (PGHS-1 und PGHS-2) hemmen (Frölich, TIBS, Januar 1997 (Vol. 18), S. 30)). Dadurch wird die Bildung von bestimmten Entzündungsmediatoren, den Prostaglandinen, unterdrückt und die Entstehung und Perpetuation von Entzündungssymptomen wie Rötung, Schwellung, Erwärmung, Schmerz und eingeschränkte Funktion blockiert (Vane and Botting (1996) Overview - mechanism of action of anti-inflammatory drugs - COX-2 enzyme inhibitors. Ed.: Vane J.R., Botting J., Botting R., S. 1-27, Lancaster: Kluwer Academic Publishers). Dabei spielt es keine Rolle, ob die Entzündung auf der Basis von Verletzungen (Traumen), Infektionen (Bakterien, Viren, Pilze), Tumoren oder immunologischen Reaktionen (allergische Reaktionen, Autoimmunerkrankungen) entsteht. Neuerdings wird ein weiterer spezifischer Therapieansatz versucht. Dabei soll der durch Entzündungsreize wie Phorbolster oder Zytokine im Entzündungsgewebe erfolgende, zur Bildung unterschiedlicher Entzündungsmediatoren führende Aktivierungsprozeß über die Hemmung des zentralen Transkriptionsfaktors  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  unterbrochen werden (Bauerle and Henkel, Annu. Rev. Immunol. (1994) 12, S. 141-179; Barnes and Adcock, TIPS, Februar 1997 (Vol. 18), S. 46).

Die bisher verwendeten Inhibitoren der Produktion von Prostaglandinen, wie z. B. racemisches Ibuprofen, weisen alle unerwünschte Arzneimittelwirkungen auf, die z. T. auf der Hemmung der Prostaglandinproduktion durch die Cyclooxygenase 1 beruhen. Einige Organsysteme, wie z. B. die Magen-Darmschleimhaut, das Nierengewebe, die Lungen-schleimhaut und Blutzellen bedürfen nämlich der andauernden Produktion von Prostaglandinen durch die konstitutiv vorhandene Cyclooxygenase 1. Bei Hemmung dieses Enzymsystems kommt es daher zu Schäden (Vane and Botting, supra). Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es daher, Substanzen zu finden, die nur oder überwiegend die Prostaglandinsynthese in Zusammenhang mit Entzündungsprozessen, d. h. besonders im entzündeten Gewebe verhindern, die Produktion in allen anderen Geweben aber nicht oder nur geringfügig tangieren. Solche Arzneistoffe sollten z. B. nur oder überwiegend in den für die Entzündungssymptomatik entscheidenden Zellen entstehen oder aktiviert werden und nur die in diesen Zellen bei Entzündungen gebildete Cyclooxygenase 2 und zusätzlich andere Entzündungsmediatoren in ihrer Bildung hemmen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch ein Arzneimittel, enthaltend CoA-Thioester von Arylpropionsäuren, Arylessigsäuren oder Acetylsalicylaten, R-Ibuprofen oder Racemate von Ibuprofen mit bis zu 49% S-Ibuprofen oder Derivate der genannten Verbindungen, welche im Organismus in analoger Weise metabolisiert werden.

Bei der Analyse der Enantiomeren von Arylpropionsäuren, d. h. bekannter antientzündlicher Arzneistoffe, zeigte sich, daß das als unwirksam betrachtete R-Enantiomer des Ibuprofens (Evans, Eur. J. Clin. Pharmacol. (1992) 42, 237-256; Klein, Therapiewoche Österreich, 8. Dezember 1993, Heft 12, 652-657) im Intermediärstoffwechsel zu R- und S-CoA-Thioestern metabolisiert wird (Menzel et al., Biochemical Pharmacology (1994), Vol. 48, Nr. 5, S.

1056-1058). Überraschenderweise erwiesen sich diese R- und S-Ibuprofen CoA-Thioester als potente und spezifische Hemmer der Aktivierung des nukleären Transkriptionsfaktors  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  (Abb. 1). Als Ursache dieses überraschenden Befundes erwies sich, daß diese R- und S-CoA-Ibuprofenthioester zu einer Hemmung der  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ -abhängigen Transkription führen (Abb. 2). Da der nukleäre Transkriptionsfaktor  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  für die Bildung einer Reihe von Eiweißstoffen (Zytokinen) und Enzymen (Cyclooxygenase 2) mit bekannt proinflammatorischen Eigenschaften verantwortlich ist (Barnes and Adcock, supra) erscheint der beobachtete neuartige Effekt der R- und S-Thioester von besonderer Bedeutung für die Hemmung, Verminderung und zeitliche Begrenzung von allen Symptomen akuter und chronischer Entzündungen. So ließ sich z. B. zeigen, daß die Induktion der Cyclooxygenase 2, die für die Bildung inflammatorischer Prostaglandine überwiegend verantwortlich ist (Seibert et al., Novel Molecular Approaches to Anti-Inflammatory Theory, 1995, Birkhäuser Verlag, Basel, AAS 46, S. 41) in Entzündungszellen (Monocyten des Blutes) durch die genannten Thioester blockiert wurde, indem die genannten Thioester nicht nur die Aktivierung von  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  hemmen, sondern auch die Bildung der  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  abhängigen Cyclooxygenase blockieren (Abb. 2).

Als Konsequenz dieser Erfindung ergibt sich, daß die genannten Thioester des R-Enantiomers des Ibuprofens hochaktive Hemmer der Aktivierung von  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  durch entzündliche Stimuli und dadurch spezifische, antiphlogistische und analgetische Wirkstoffe sind. Sie hemmen besonders im entzündeten Gewebe die Bildung der  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  abhängigen Entzündungsmediatoren.

Gleiches gilt für R-Ibuprofen selbst, welches im Körper zu den genannten Thioestern metabolisiert wird. Es können im Prinzip im Rahmen der Erfindung auch Racemate von Ibuprofen mit bis zu 49% S-Ibuprofen verwendet werden, da hierbei die Wirkung des R-Ibuprofens immer noch die unerwünschten Wirkungen des S-Ibuprofens, welche in der Einleitung dargelegt wurden, überwiegt. Gleichfalls können Derivate der genannten Verbindungen verwendet werden, welche im Organismus in analoger Weise metabolisiert werden.

Außerdem liegen Anhaltspunkte dafür vor, daß dieselben Mechanismen auch mit Arylessigsäuren oder Acetylsalicylaten ablaufen. Diese Verbindungen sind daher im Rahmen der Erfindung mitumfaßt.

Die hier berichtete Beobachtung widerspricht dem Stand der Technik, die bisher keinen eigenständigen pharmakologischen (antiphlogistischen oder analgetischen) Effekt für die Thioester des Ibuprofens oder des Prodrugs, R-Ibuprofen (A.M. Evans, Eur. J. Clin. Pharmacol. (1992) 42, S. 237-256; Klein, supra) vermutete. Dieser überraschende Befund führte zu der Erkenntnis, daß gerade diese Thioester, die entsprechenden Prodrugs und galenische Produkte vorteilhaft therapeutisch verwendet werden können, weil durch ihre Verwendung eine Verminderung der unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei erhaltener Wirksamkeit zu erwarten ist. (Es wird ja nicht die für viele Organe wichtige Cyclooxygenase 1, s. oben, sondern unter anderem die im Entzündungsgewebe durch die entzündungsbedingte Aktivierung von  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  entstehende Cyclooxygenase 2 an ihrer Entstehung gehindert.) Insbesondere die Ibuprofenthioester stellen somit ein neuartiges, bisher unbekanntes Wirkprinzip bei Entzündungen dar. Ihr Wirkungsspektrum ist vermutlich anders (breiter, vgl. z. B. A.S. Baldwin, Jr., Annu. Rev. Immunol. (1996) 14, 649-81) als dasjenige bekannter Hemmer von Cyclooxygenasen, da verschiedene  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  abhängige Mediatoren vermindert gebildet werden. Ihr Nebenwirkungsspektrum ist vermutlich geringer, da keine Cyclooxy-

genase 1-Hemmung erfolgt.

Im Rahmen der Erfindung scheint es außerdem möglich, andere NF- $\kappa$ B abhängigen Prozesse zu hemmen, die wiederum die Grundlage anderer Krankheiten oder unangenehmer Erscheinungen sind. Dies sind z. B. die Entstehung und das Wachstum von Tumoren, Autoimmunerkrankungen, allergische Reaktionen etc. Im Prinzip kann daher das erfindungsgemäße Arzneimittel für die Prophylaxe oder Behandlung aller derartiger Erscheinungsformen angewandt werden, die auf NF- $\kappa$ B abhängigen Prozessen beruhen.

#### Beispiele für Wirkstoffe im Sinne dieses Patents

1. R- und S-Ibuprofen -(CoA)- Thioester und deren im gleichen Sinn aktiven Derivate wie Ester, Salz und andere übliche chemische Verbindungen etc.
2. Alle Prodrugs der Ibuprofenthioester wie z. B. R-Ibuprofen und seine Derivate soweit sie im Organismus zu CoA-Thioestern metabolisiert werden.
3. Alle pharmakologisch im gleichen Sinn wirksamen Präparationen, z. B. racemische Gemische von R-Ibuprofen mit bis zu 49% S-Ibuprofen.

Die Abb. 1 und 2 zeigen, wie im Text bereits ausgeführt, die Grundlagen der vorliegenden Erfindung:

#### Abb. 1

Einfluß von R-Ibuprofen-CoA-Thioester auf die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B in Jurkat-Zellen. Der Elektro Mobility-Shift Assay (DIG Gel Shift Kit, Boehringer Mannheim) zeigt, daß in Phorbol ester (TPA) stimulierten Jurkat-Zellen eine zweistündige Preinkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen an R-Ibuprofenthioester (100, 10 und 1  $\mu$ M) eine Aktivierungshemmung von NF- $\kappa$ B (Spur 3-5) bewirkt. Spur 1 zeigt die unstimulierten, Spur 2 die stimulierten Kontrollzellen.

#### Abb. 2

Hemmung der PGHS-2 durch R-Ibuprofenoyl-CoA

- Spur 1: 1.0 mM Ibuprofen, racemisch  
 Spur 2: 0.1 mM Ibuprofen, racemisch  
 Spur 3: 0.05 mM Ibuprofen, racemisch  
 Spur 4: 0.5 mM R-Ibuprofenoyl-CoA  
 Spur 5: 0.25 mM R-Ibuprofenoyl-CoA  
 Spur 6: 0.05 mM R-Ibuprofenoyl-CoA  
 Spur 7: Kontrolle, Medium + LPS

Inkubation von LPS-induzierten Monozyten (24 Std.). Die Abbildung zeigt, daß R-Ibuprofenoyl-CoA Thioester im Gegensatz zu racemischem Ibuprofen (R- und S-Ibuprofen) dosisabhängig zu einer Unterdrückung der Bildung von PGHS-2 (Cyclooxygenase-2) führt.  
 Methode nach: BRIDEAU, C., KARGMAN, S., LIU, S., DALLOB, A.L., EHRICH, E.W., RODGER, I.W. & CHAN, C.C. (1996). A human whole blood assay for clinical evaluation of biochemical efficacy of cyclooxygenase inhibitors. Inflamm. Res., 45, 68-74.

#### Patentansprüche

1. Arzneimittel, enthaltend CoA-Thioester von Arylpropionsäuren, Arylessigsäuren oder Acetylsalicylaten, R-Ibuprofen oder Racemate von Ibuprofen mit bis zu 49% S-Ibuprofen oder Derivate der genannten Verbindungen, welche im Organismus in analoger Weise

metabolisiert werden.

2. Arzneimittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es R- oder/und S-Ibuprofen-CoA-Thioester oder R-Ibuprofen enthält.

3. Verwendung eines Arzneimittels nach Anspruch 1 oder 2 für die Indikationen akuter oder/und chronischer Schmerz, Entzündungen jedweder Genese und zur Bekämpfung aller anderen Symptome von entzündlichen Prozessen.

4. Verwendung von Arzneimitteln gemäß Anspruch 1 oder 2 zur Hemmung von NF- $\kappa$ B-abhängigen Prozessen bei der Entstehung oder dem Wachstum von Tumoren, bei Autoimmunerkrankungen oder allergischen Reaktionen.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

Abb. 1

# Hemmung der NF- $\kappa$ B Aktivierung durch R-Ibuprofen-CoA-Thioester

TPA	-	+	+	+	+
R-Ibuprofen-CoA-Thioester [ $\mu$ M]	-	-	100	10	1

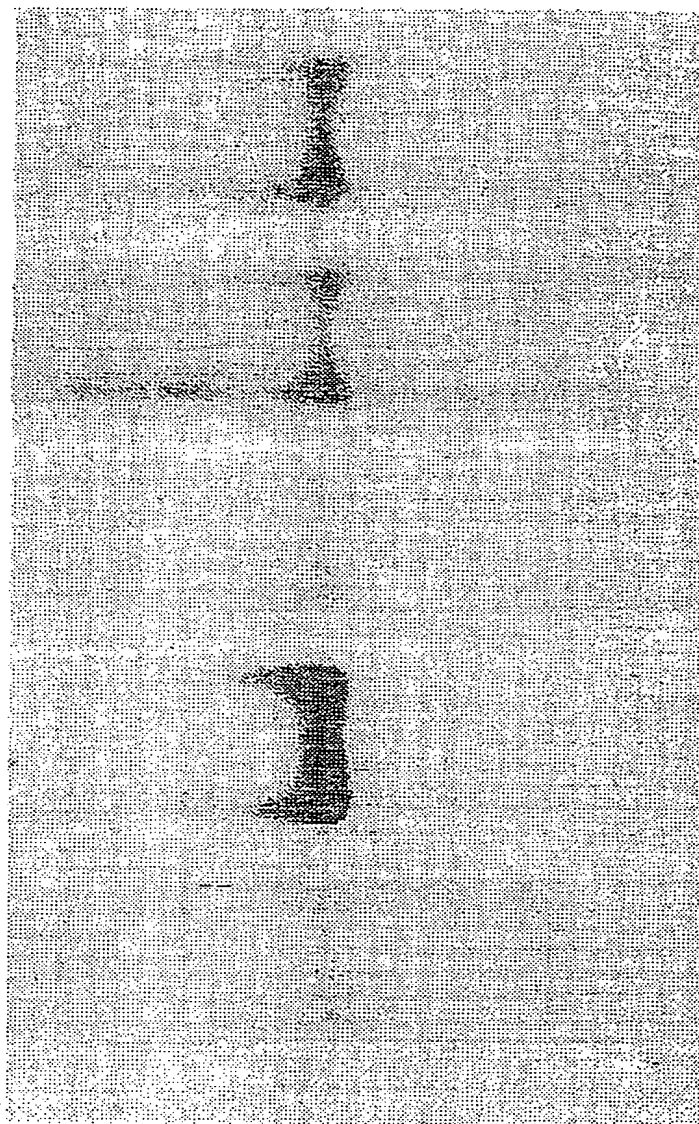


Abb. 2

72 kD-

